

124

PREVALENZA DI HDV IN UNA POPOLAZIONE CALABRESE DI PORTATORI CRONICI DI HBsAg

Tenuta R., Greco F., Noto A., Palermo M., Perugini D., Savino O., Giraldo C.

Virologia Ospedale, Annunziata AO Cosenza

Introduzione. Radjef ipotizza che nel mondo siano coinfectate con HDV circa 20.000.000 persone, partendo dal presupposto che a livello mondiale, sono presenti 460.000.000 persone affette da infezione cronica HBV correlata; scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare la prevalenza di HDV in una popolazione calabrese di portatori cronici di HBsAg.

Materiali e Metodi. E' stata determinata la presenza di IgG e IgM anti HDV in 215 campioni, provenienti dalla nostra banca di campioni e riferiti esclusivamente al periodo gennaio-dicembre 2005, tutti appartenenti ad una popolazione HBsAg positiva. Il 32% di questi campioni, proveniva da pazienti con epatite cronica HBV correlata; il restante di questi apparteneva a soggetti apparentemente sani. Su tutti i 215 campioni, sono stati eseguiti: AST, ALT, HBsAg, HBe Ab/Ag, HBcAb (Abbott), IgG e IgM anti HDV (Sorin), HBVDNA quantitativo (Real Time ROCHE e/o bDNA Bayer).

Risultati. I campioni esaminati, provenivano per il 32% da pazienti con epatite cronica HBeAb positiva, ipertransaminasiemia e con HBVDNAemia, il restante 68% dei soggetti presentano transaminasi nella norma e HBVDNAemia positiva/negativa. Su tutti i campioni abbiamo riscontrato i seguenti pattern: n. 5 campioni IgG anti-HDV positivi e IgM anti-HDV negativi e n.10 campioni IgG e IgM anti-HDV positivi. La prevalenza nella nostra popolazione, di portatori cronici di HBsAg risulta essere pari al 7%.

Conclusioni. Nel 2006, nonostante la vaccinazione obbligatoria nei confronti di HBV, la prevalenza nella nostra regione dell'infezione da HBV risulta essere ancora alta, con circolazione del virus delta, pari al 7%, soprattutto nelle popolazioni a rischio.

125

GENOTIPIZZAZIONE DI HCV: CONFRONTO TRA UN NUOVO TEST IN REAL-TIME PCR E UN TEST DI IBRIDAZIONE SU FASE SOLIDA

Rossi A.¹, Bassani A.¹, Berrone A.¹, Baj A.¹, Pulvirenti F.R.², Toniolo A.Q.¹

¹Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Università dell'Insubria e Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese;

²Abbott Molecular, Roma

Introduzione. La genotipizzazione di HCV è utile a prevedere la risposta alla terapia, modulare la durata del trattamento e formulare vaccini protettivi. A scopo clinico è sufficiente determinare il tipo virale. E' anche interessante distinguere i sottotipi 1a e 1b per i possibili riflessi sulla progressione e gravità della malattia. L'ibridazione su membrana dei

prodotti di amplificazione è il metodo diagnostico più diffuso (LiPA HCV, Bayer). Abbiamo confrontato con il LiPA HCV test un nuovo metodo di tipizzazione in real-time PCR (HCV Genotyping ASR, Abbott-Celera) che, partendo da RNA estratto in maniera manuale o automatizzata, identifica i genotipi virali 1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4 e 5 mediante tre reazioni multiplex che utilizzano sonde TaqMan. Il test riconosce due regioni genomiche: NS5 per discriminare i sottotipi 1a e 1b e 5'UTR per gli altri tipi e sottotipi.

Metodi. Si sono analizzati campioni di siero di 72 pazienti con infezione cronica da HCV conservati a -70°C.

Risultati. Il metodo real time PCR ha assegnato il tipo/sottotipo in 71 dei 72 campioni (1 indeterminato). La concordanza di tipo è risultata del 98,6%. Il campione discordante è risultato di tipo 4 con il metodo in real-time PCR e di tipo 1 con il metodo LiPA. Su 16 campioni identificati come tipo 1 dal LiPA, la real-time PCR ha assegnato anche il sottotipo (1a, 14 campioni; 1b, 2 campioni). Cinque campioni sono risultati discordanti per il sottotipo (1a, real-time PCR; 1b, LiPA). Un campione con infezione mista (1+4) è stato identificato da entrambi i metodi.

Conclusioni. La real time PCR ha mostrato alta concordanza con il test LiPA per l'identificazione del tipo virale. Il target NS5 appare affidabile per distinguere i sottotipi 1a e 1b. Il metodo sembra anche capace di identificare le infezioni miste.

126

VALUTAZIONE DI UN SISTEMA IN PCR REAL-TIME APPLICATO ALLO SCREENING TRASFUSIONALE PER HCV, HIV-1/HIV-2 E HBV

Ursitti A., Schiavone M.L., De Angelis A., Luciani A.R., Panecaldo I., Spanò A.

Servizio di Microbiologia, Virologia, Immunologia Ospedale S. Pertini ASL RMB - Centro di riferimento per la Sicurezza Trasfusionale della Regione Lazio.

Premessa. Scopo del lavoro è stato quello di valutare le prestazioni di un sistema automatico di screening per HCV, HBV, e HIV attraverso tecnologia degli acidi nucleici (NAT) relativamente ai parametri di sensibilità, specificità, accuratezza diagnostica e caratteristiche d'impiego della nuova piattaforma analitica rispetto alla strumentazione in uso presso il nostro centro.

Metodi. Il sistema valutato è il Cobas s201 (Roche Molecular System, Branchburg, NJ,US), costituito da un modulo per l'esecuzione del pooling (Hamilton Microlab STAR), dalla componente per l'estrazione degli acidi nucleici (Cobas AmpliPrep), e dall'analizzatore (Cobas TaqMan) per l'amplificazione/rivelazione con tecnologia PCR Real-time. I reattivi TaqScreen multiplex utilizzati consentono la rivelazione contemporanea di 5 analiti: HCV, HIV-1 gruppo M, HIV-1 gruppo O, HIV-2 ed HBV. Sono state effettuate le seguenti valutazioni: 1. qualifica dell'operatore, utilizzando 4 pannelli Acrometrix da 6 membri (11 positivi e 13 negativi); 2. riproducibilità, impiegando 4 pannelli Acrometrix da 6 membri (20 positivi e 4 negativi); 3. sensibilità, attraverso diluizioni a differenti concentrazioni allestite da 3 standard WHO HCV, HBV e HIV-1; 4. studio dei donatori, effettuato su 2018 donazioni random, in minipool costituiti da 6 campioni (le stesse dona-